



TITLE:

Differential Involvement of the Npl4 Zinc Finger Domains of SHARPIN and HOIL-1L in Linear Ubiquitin Chain Assembly Complex-Mediated Cell Death Protection.(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Shimizu, Satoshi

CITATION:

Shimizu, Satoshi. Differential Involvement of the Npl4 Zinc Finger Domains of SHARPIN and HOIL-1L in Linear Ubiquitin Chain Assembly Complex-Mediated Cell Death Protection.. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20223>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	清 水 覚 司
論文題目	Differential Involvement of the Npl4 Zinc Finger Domains of SHARPIN and HOIL-1L in Linear Ubiquitin Chain Assembly Complex-Mediated Cell Death Protection (LUBAC アクセサリー分子 SHARPIN と HOIL-1L の NZF ドメインがプログラム細胞死抑制において果たす機能的差異について)		
(論文内容の要旨)			
<p>ユビキチン修飾系は、タンパク質性のユビキチン分子を基質タンパク質に結合させ、種々の生命現象を調節する翻訳後修飾系である。多くの場合、ユビキチン分子 C 末端のグリシンと別のユビキチン分子のリシン残基が結合して形成されたポリユビキチン鎖を付加することで、タンパク質の機能を制御している。LUBAC ユビキチンリガーゼは、ユビキチン分子 C 末端のグリシンを別のユビキチン分子 N 末端のメチオニンに結合して、直鎖状ポリユビキチン鎖を特異的に生成することで、NF-κB 経路の活性化やプログラム細胞死を抑制している。</p> <p>LUBAC は活性中心を有する HOIP と、制御性サブユニットである、SHARPIN と HOIL-1L から構成される。SHARPIN と HOIL-1L は相同性が高く、いずれも Ubiquitin-like (UBL)ドメインおよび Npl4 zinc finger (NZF)ドメインを有する。いずれのサブユニットを欠損しても LUBAC 複合体の安定性が減弱するが、SHARPIN を自然突然変異によって欠失した <i>cpdm</i> (chronic proliferative dermatitis) マウスでは、プログラム細胞死が亢進し、慢性増殖性皮膚炎を始めとした全身臓器の炎症症状や種々の免疫異常を呈するのに対し、HOIL-1L 欠損マウスは顕著な表現型を呈さない。</p> <p>本研究では、SHARPIN と HOIL-1L の機能的差異を検証するために、まず、それぞれの制御性サブユニットを欠損したマウスを交配し、得られた仔の表現型を解析した。SHARPIN と HOIL-1L 両者を欠損したマウスは、HOIP の活性中心を欠失した HOIP^{Δlinear/Δlinear} マウスや HOIP 欠損(HOIP^{-/-})マウスと同様に、プログラム細胞死が亢進して胎生 10.5 日で死亡しており、制御性サブユニットの欠損によって LUBAC の活性はほぼ完全に欠失すると考えられた。HOIL-1L^{-/-} SHARPIN^{+/<i>cpdm</i>} マウスは顕著な表現型を示さなかった。一方、HOIL-1L^{+/-} SHARPIN^{<i>cpdm/cpdm</i>} マウスでは、HOIL-1L、HOIP で構成される LUBAC の発現量が <i>cpdm</i> マウスよりも減少し、<i>cpdm</i> マウスより早期から強い炎症症状を発症するが、病態の特徴は同じであった。これらの結果は、<i>cpdm</i> マウスの病態形成には 1. SHARPIN の欠損によるプログラム細胞死の亢進が不可欠であること、2. HOIL-1L は LUBAC の量を調節して症状の程度を制御していることを示唆している。</p> <p>さらに、SHARPIN と HOIL-1L の機能的差異を引き起こす分子機構を検討したところ、両サブユニットの相同性の高い NZF</p>			

ドメインのうち、SHARPIN の NZF ドメインのみが有する K63 鎖への結合能が、LUBAC の活性型 TNF 受容体への動員に關与するために、SHARPIN は HOIL-1L より強くプログラム細胞死の抑制に關与していることを見出した。

ヒトで HOIP、HOIL-1L の変異は免疫不全症を惹起することや、LUBAC の活性亢進が B 細胞リンパ腫の発症に關与することが報告されており、LUBAC ユビキチンリガーゼは臨床的にも注目されつつある。本研究は LUBAC によるプログラム細胞死を制御するメカニズムの一端を明らかにしたのに加え、LUBAC の機能不全による疾患の病態形成メカニズムを解明した、医学的に意義深い研究である。

（論文審査の結果の要旨）

直鎖状ユビキチン鎖を特異的に生成する LUBAC は、活性中心を有する HOIP と、2 つの制御性分子である SHARPIN と HOIL-1L からなり、NF-κB 経路活性化やプログラム細胞死抑制に關与する。両制御性分子は、相同性の高い UBL ドメインと NZF ドメインを有し、いずれの分子を欠損しても LUBAC の安定性が減じて NF-κB 活性化が減弱するが、SHARPIN を欠失したマウスのみプログラム細胞死が亢進して自己炎症性疾患様症状を呈する。本研究では、両制御性分子がプログラム細胞死抑制において果たす機能的差異を検証した。

まず、各々の制御性分子欠損マウスを交配し、両制御性分子が相補的機能を持つか検証した。両制御性分子を同時に欠損すると、HOIP 活性中心を欠失したマウスと同様に胎生 10.5 日で死亡した。HOIL-1L を欠損しても野生型 SHARPIN 遺伝子座を 1 つ有するマウスは顕著な表現型を呈さないが、SHARPIN が欠失していれば HOIL-1L 遺伝子座が少ない方が激的な症状を呈した。以上から、SHARPIN のみが細胞死抑制機能を持ち、LUBAC の量が病勢を規定すると考えられた。さらに、両制御性分子の相同性の高い NZF ドメインの機能的差異により、SHARPIN のみが細胞死抑制機能を持つことを明らかにした。

以上の研究は LUBAC 機能不全による自己炎症性疾患様症状発症の分子機構解明に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 11 月 17 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。